



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.156.49.02

ГИДРОЛИЗ ДИФЕНИЛСУЛЬФИТА КАТЕПСИНОМ D

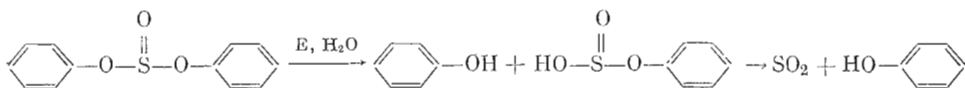
Михайлова А. Г., Казакова О. В*, Антонов В. Е.

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва;*

** Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Протеолитический фермент катепсин D (КФ 3.4.23.5) впервые был обнаружен в селезенке быка [1], а затем в других тканях животных. Исследование специфичности этого фермента [1—3] продемонстрировало его близкое родство с пепсином (КФ 3.4.22.1) в отношении природы аминокислотных остатков субстратов, образующих рещепляемую связь: оба эти фермента гидролизуют пептиды, содержащие гидрофобные остатки *L*-аминокислот с обеих сторон рещепляемой связи (Phe-Phe, Phe-Тур, Leu-Тур и т. п.). Катепсин D, как и пепсин, ингибируется пепстатином и стехиометрически реагирует с диазоингибиторами, причем модифицируется один остаток аспарагиновой кислоты [3]. Все эти данные позволяют поместить катепсин D наряду с пепсином и некоторыми другими ферментами (химозином, ренином, микробными пепсинами) в группу кислых протеиназ, обладающих, как предполагается, сходным активным центром и механизмом действия.

Мы обнаружили, что катепсин D и пепсин обладают еще одним общим свойством — способностью катализировать гидролиз дифенилсульфита (ДФС):



Нами получены константы ферментативного гидролиза ДФС двумя препаратами катепсина D: из печени кур и из селезенки быка, а также для сравнения — свиным пепсином (см. таблицу). Высокоочищенные препа-

Константы гидролиза дифенилсульфита катепсином D и пепсином
0,1 M ацетатный буфер, pH 3,1; 37°

Фермент	[E] · 10 ⁶ , M	[S] ₀ · 10 ⁴ , M	кат. мин ⁻¹	K _m · 10 ⁴ , M
Катепсин D из печени кур	7	0,75—0,15	0,29±0,05	1,5±0,3
Катепсин D из селезенки быка	1,87	1,0—0,3	0,43±0,03	1,14±0,1
Свиной пепсин	2	1,35—0,375	0,73±0,08	1,25±0,2

Сокращения: ДФС — дифенилсульфит.

раты катепсина получены аффинной хроматографией [4]. Свиной пепсин Олайнского завода химреактивов очищен по методу [5]. ДФС синтезирован по методу [6]. Кинетику гидролиза ДФС определяли спектрофотометрически при 270 нм ($\Delta\epsilon_{270} = 2500$ [6]) на приборе Gillford-2400-2 с автоматическим вычитанием спонтанного гидролиза.

Приведенные в таблице константы ферментативного гидролиза ДФС весьма мало различаются для двух препаратов катепсина D и свиного пепсина. Следует отметить, что скорость гидролиза катепсином D олигопептидных субстратов на несколько порядков ниже, чем скорость гидролиза тех же субстратов пепсином, причем катепсин вообще не расщепляет ди- и трипептиды [3, 7].

Полученные нами данные подтверждают принадлежность обоих ферментов к общей группе со сходным механизмом действия. Так как дифенилсульфит более доступен, чем тетра- и более длинные пептидные субстраты катепсина D, и гидролизуется им достаточно быстро, он может быть полезен для определения активности препаратов этого фермента, при изучении его модификации, ингибирования и особенностей механизма действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Press E. M., Porter R. R., Cebra J. (1960) *Biochem. J.*, **74**, 504—514.
2. Kazakova O. V., Orekhovich V. N., Pourchot L., Schuck J. M. (1972) *J. Biol. Chem.*, **247**, 4224—4228.
3. Ferguson J. V., Andreros J. R., Voynick I. M., Fruton J. S. (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 6701—6708.
4. Казакова О. В., Шудкевер И. Е., Орехович В. Н. (1977) *Биоорг. химия*, **3**, 887—890.
5. Гишодман Л. М. (1962) в сб. *Актуальные вопросы современной биохимии*, т. 2, с. 54, Медгиз, М.
6. Stein T. P., Reid T. W., Fahrney D. (1971) *Anal. Biochem.*, **41**, 360—364.
7. Sampath-Kumar P. S., Fruton J. S. (1974) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 1070—1072.

Поступила в редакцию
29.XII.1977

DIPHENYLSULFITE HYDROLYSIS BY CATHEPSIN D

МИХАИЛОВА А. Г., КАЗАКОВА О. В., АНТОНОВ В. К.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow;
Institute of Biological and Medical Chemistry,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

It has been found that cathepsin D catalyzes the hydrolysis of diphenylsulfite, the catalytic constants for hen liver and bovine spleen cathepsins being similar to those found with porcine pepsin.

Технический редактор *Е. С. Кузьмишина*

Сдано в набор 20.02.1978 г.	Подписано к печати 03.04.78	T-00 385
Формат бумаги 70×108 ^{1/16}	Высокая печать	Усл. печ. л. 12,6
Уч. изд. л. 13,6	Бум. л. 4 ^{1/2}	Тираж 845 экз.
		Зак. 198

Адрес редакции: 117312, Москва В-312, ул. Вавилова, дом 34, комн. 335
2-я типография издательства «Наука». Москва, Шубинский пер., 10